



A. S. Gotsulya

## Synthesis and investigation of the physical-chemical properties of 2-(5-((theophylline-7'-yl)methyl)-4-methyl-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetic acid salts

Zaporizhzhia State Medical University

### Key words:

Theophylline, 1,2,4-triazole, Physical-Chemical Properties, Synthesis.

At this stage of modern science development scientists get a lot of questions in the field of medicine and pharmacy. The study and search of new ways for synthesis of high-performance and low-toxic substances is one of the most important questions among them. Special attention is paid to 1,2,4-triazole and xanthine. On their basis some medical drugs have been previously made and are widely used in nowadays medicine.

**The aim** of this work was the synthesis of salts of 2-(5-((theophylline-7'-yl)methyl)-4-methyl-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetic acid and the study of their properties.

**Methods and results.** Theophylline has been selected as starting material. Through a number of stages 7'-((3-thio-4-methyl-4H-1,2,4-triazole-5-yl)methyl)theophylline has been obtained.

Salts with organic and inorganic bases have been obtained by the neutralization reaction in aqueous medium. The structure of the compounds has been confirmed with elemental analysis on Elemental Vario EL cube (Elementar Analysensysteme, Germany), IR spectra (4000–400 cm<sup>-1</sup>) have been taken off the module ALPHA-T of Bruker ALPHA FT-IR spectrometer (Bruker optics, Germany). Gear Liquid Chromatography System with Mass spectrometric detector (Agilent Technologies, USA): Agilent 1260 Infinity HPLC System; single quadrupole mass spectrometer Agilent 6120 with electrospray ionization (ESI); Open LAB CDS Software. The formation of salts has been confirmed by the signals corresponding to protonated amines.

**Conclusion.** The optimal conditions of obtaining salts of 2-(5-((theophylline-7'-yl)methyl)-4-methyl-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetic acid with inorganic and organic bases have been determined. Corresponding carboxylic acid has been obtained by interaction of the resulting thiol with monochloroacetic acid in aqueous solution with double quantity of alkali and subsequent neutralization by hydrochloric acid.

It has been confirmed that the greatest outputs of the reaction products were observed while using water as the solvent and its further replacement of propan-1-ol or acetone. The general physical-chemical properties of the obtained compounds have been studied and a preliminary study of biological activity has been done.

### Синтез і дослідження фізико-хімічних властивостей солей 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти

А. С. Гоцуля

Сьогодні перед науковцями постає багато питань у сфері медицини та фармації, одним із найважливіших серед них є дослідження та пошук нових шляхів синтезу високоефективних і малотоксичних речовин. Особливу зацікавленість викликають похідні 1,2,4-тріазолу та ксантину. На їхній основі створено велику кількість лікарських препаратів, які широко застосовуються в сучасній медичній практиці.

**Мета роботи** – синтез і дослідження властивостей солей 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти.

**Методи та результати.** Як вихідну речовину обрали теофілін, на основі якого через низку послідовних стадій отримано 7'-((3-тіо-4-метил-4H-1,2,4-тріазол-5-іл)метил)теофілін. Реакцією нейтралізації одержані солі з органічними та неорганічними основами у водному середовищі. Досліджені фізичні та хімічні властивості сполук, що отримали. Будова речовин підтверджена за допомогою елементного аналізу з використанням приладу Elemental Vario L cube (CHNS), ІЧ-спектрофотометрії (4000–400 см<sup>-1</sup>): ІЧ-спектри зняті на модулі ALPHA T спектрометра Bruker ALPHA FT-IR. <sup>1</sup>H ЯМР спектри сполук записані за допомогою спектрометра «Mercury 400» (розчинник – ДМСО-d<sub>6</sub>, внутрішній стандарт – тетраметилсилан). Хромато-мас-спектральні дослідження здійснені на приладі Agilent 1100 Series LC/MSD System, спосіб іонізації – хімічна іонізація при атмосферному тиску (APCI). Утворення солей підтверджені сигналами відповідних протонуваних амінів.

**Висновки.** Встановили оптимальні умови отримання солей 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти з неорганічними та органічними основами. Взаємодією тіолу, що одержали, з кислотою монохлорацетатною у водному розчині подвійної кількості луку з наступною нейтралізацією кислотою хлоридною отримана відповідна карбонова кислота. Підтверджено, що найбільші виходи солей як продуктів реакції спостерігали під час використання води як розчинника з наступною її заміною на пропан-1-ол або ацетон. Здійснили дослідження загальних фізичних і хімічних властивостей сполук і виконали попереднє дослідження біологічної активності.

**Ключові слова:** теофілін, 1,2,4-тріазол, фізико-хімічні властивості, синтез.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.** – 2016. – №3 (22). – С. 4–7

## Синтез и исследование физико-химических свойств солей 2-(5-((теофиллин-7'-ил)метил)-4-метил-4H-1,2,4-триазол-3-илтио)-ацетатной кислоты

А. С. Гоцуля

Сегодня перед учёными возникает много вопросов в сфере медицины и фармации, и одним из важнейших среди них является исследование и поиск новых путей синтеза высокоэффективных и малотоксичных веществ. Особый интерес вызывают производные 1,2,4-триазола и ксантина. На их основе создано значительное количество лекарственных препаратов, которые широко применяются в современной медицинской практике.

**Цель работы** – синтез и исследование свойств солей 2-(5-((теофиллин-7'-ил)метил)-4-метил-4H-1,2,4-триазол-3-илтио)ацетатной кислоты.

**Методы и результаты.** В качестве исходного вещества выбран теофиллин, на основе которого через ряд последовательных стадий был получен 7'-((3-тио-4-метил-4H-1,2,4-триазол-5-ил)метил)теофиллин. Реакцией нейтрализации получены соли с органическими и неорганическими основаниями в водной среде. Исследованы общие физические и химические свойства полученных соединений. Строение веществ подтверждено с помощью элементного анализа на приборе ElementarVario L cube (CHNS), ИК-спектрофотометрии (4000–400 см<sup>-1</sup>): ИК спектры были сняты на модуле ALPHA T спектрометра Bruker ALPHA FT-IR. <sup>1</sup>H ЯМР спектры соединений записаны с помощью спектрометра «Меркури 400» (растворитель – ДМСО-d<sub>6</sub>, внутренний стандарт – тетраметилсилан). Хромато-масс-спектральные исследования проводили на приборе Agilent 1100 Series LC/MSD System, способ ионизации – химическая ионизация при атмосферном давлении (APCI). Образование солей подтверждено сигналами соответствующих протонированных аминов.

**Выводы.** Установлены оптимальные условия получения солей 2-(5-((теофиллин-7'-ил)метил)-4-метил-4H-1,2,4-триазол-3-илтио)ацетатной кислоты с неорганическими и органическими основаниями. Взаимодействием полученного тиола с кислотой монохлорацетатной в водном растворе удвоенного количества щёлочи с последующей нейтрализацией кислотой соляной получена соответствующая карбоновая кислота. Подтверждено, что наибольшие выходы солей как продуктов реакции наблюдались при использовании воды в качестве растворителя с последующей её заменой на пропан-1-ол или ацетон. Исследованы общие физические и химические свойства полученных соединений и предварительное исследование биологической активности.

**Ключевые слова:** теофиллин, 1,2,4-триазол, физико-химические свойства, синтез.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики.** – 2016. – № 3 (22). – С. 4–7

At this stage of modern science development scientists get a lot of questions in the field of medicine and pharmacy. The study and search of new ways for synthesis of high-performance and low-toxic substances is one of the most important questions among them. Derivatives of 1,2,4-triazole and xanthine are of special interest [2–10]. Established drugs on their basis are widely used in medicine. Despite the achievements of modern pharmacy in the sphere of this group of heterocyclic compounds the search for new biologically active compounds remains timely and important.

**The aim of this work** was the synthesis of salts of 2-(5-((theophylline-7'-yl)methyl)-4-methyl-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetic acid and the study of their properties.

### Materials and methods

Theophylline has been selected as starting material. Through a number of stages 7'-((3-thio-4-methyl-4H-1,2,4-triazole-5-yl)methyl)theophylline has been obtained.

The study of physical-chemical properties of the obtained compounds was carried out using methods listed in the State Pharmacopoeia of Ukraine (Table 1).

The melting point was determined using capillary method on Stanford Research Systems Melting Point Apparatus 100, America. The structure of the compounds was confirmed with elemental analysis on Elemental Vario EL cube (Elementar Analysensysteme, Germany), IR spectra (4000–400 cm<sup>-1</sup>) were taken off the module ALPHA T of Bruker ALPHA FT-IR spectrometer (Bruker optics, Germany). Chromate-mass-spectral studies were carried out on Agilent 1100 Series LC/MSD System, method of ionization

– chemical ionization at atmospheric pressure (APCI).

Getting the *n*-propyl ester theophylline (2), theophylline hydrazide (3), 2-(2-(theophylline-7'-yl)acetyl)-N-methylhydrazinecarbothioamide (4) has been held by the previously described methods [1].

**7'-((3-thio-4-methyl-4H-1,2,4-triazole-5-yl)methyl)theophylline.** A mixture of 0.01 mol 2-(2-(theophylline-7'-yl)acetyl)-N-methylhydrazine-carbothioamide, 0.01 mol sodium hydroxide and 50 ml water is heated to boiling for 2 hours, cooled and added to the filtrate 2 ml of concentrated hydrochloric acid. The resulting precipitate was filtered off, washed with water. Crystallized from a mixture of DMF with water. Yield – 87%, m. p. 261 – 262 °C.

IR spectrum,  $\nu$ , cm<sup>-1</sup>: 2885 ( $\nu_{\text{CH}_2}$ , aliphatic), 1645 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ), 1665 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ), 1610 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ), 1560 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ), 1510 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ), 1480 ( $\delta\text{CH}_2$ ).

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz),  $\delta$ , ppm: 3.47–3.35 (6H, s, 2CH<sub>3</sub>), 4.64 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 8.36 (1H, s, CH), 11.3 (1H, s, SH).

**2-((5-((theophylline-7'-yl)methyl)-4-methyl-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)-acetic acid** (Fig. 1). In heat resistant flask 0.01 mol 7'-((3-thio-4-methyl-4H-1,2,4-triazole-5-yl)methyl)theophylline is heated with 0.02 mol of NaOH and 0.01 mol of acid monochloracetate. Heated to boiling for 1 hour. Cooled. Neutralized by acetic acid. Crystallized with propan-1-ol. Yield – 74%, m. p. 164–166 °C.

IR spectrum,  $\nu$ , cm<sup>-1</sup>: 2979 ( $\nu_{\text{OH}}$ ), 2875 ( $\nu_{\text{CH}_2}$ , aliphatic), 1735 ( $\nu_{\text{COOH}}$ ), 1653 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ), 1608 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ), 1553 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ), 1510 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ), 1475 ( $\delta\text{CH}_2$ ).

The <sup>1</sup>H NMR spectrum,  $\delta$ , ppm: 3.25–3.45 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 4.05 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 5.11 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 8.38 (1H, s, CH), 11.6 (1H, s, COOH).

Sodium, potassium, magnesium, calcium and zinc, ammonium salts and salts with organic bases 2-(5-((theophylline-7'-yl)methyl)-4-methyl-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetic acids have been obtained according to previously described methods (Fig. 1).

### Results and their discussion

<sup>1</sup>H NMR spectrum of the synthesized acid is characterized by the signals of the protons of -CH<sub>3</sub> groups of xanthine fragment and 1,2,4-triazole in the form of singlets at 3.25 ppm, 3.38 ppm and 3.45 ppm, the signals of protons of -CH<sub>2</sub>- groups in the form of the singlet at 4.05 ppm and 5.12 ppm. =CH- group is defined by singlet signal, which is

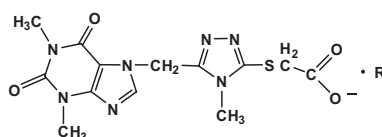
fixed with at 8.36 ppm. Proton of a -COOH group resonate in the form of widening the singlet at 11.2 ppm.

The IR spectrum of the obtained acid includes the bands of stretching vibrations of associated OH-links at 2880 cm<sup>-1</sup> and at 2937 cm<sup>-1</sup>, -CH<sub>2</sub>- group at 2820 cm<sup>-1</sup>, -COOH group at 1706 cm<sup>-1</sup>. There are also absorption bands of C=O, C=N and C=C xanthine fragment apparent in the area 1503–1658 cm<sup>-1</sup>. Fragment C-S is recorded in the form of bands of stretching vibrations at 745 cm<sup>-1</sup>.

The formation of salts was confirmed by the signals corresponding protonated amines. For example, in the spectrum diethylammonium salt is observed triplet and quadruplet

Table 1

### Physicochemical properties of the synthesized compounds



#	R	M. p., °C	Yield, %	Empirical formula	Estimated, %				Found, %			
					C	H	N	S	C	H	N	S
1	H	164-166	74	C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> N <sub>7</sub> O <sub>4</sub> S	42.64	4.15	26.78	8.75	42.73	4.14	26.84	8.77
2	Na <sup>+</sup>	178-180	67	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> N <sub>7</sub> NaO <sub>4</sub> S	40.24	3.65	25.27	8.30	40.31	3.64	25.31	8.28
3	K <sup>+</sup>	186-188	64	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> N <sub>7</sub> KO <sub>4</sub> S	38.63	3.51	24.26	7.97	38.70	3.50	24.30	7.95
4	Mg <sup>2+</sup>	>210	74	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> MgN <sub>14</sub> O <sub>8</sub> S <sub>2</sub>	41.39	3.76	26.00	8.53	41.47	3.75	26.04	8.51
5	Ca <sup>2+</sup>	125-129	76	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> CaN <sub>14</sub> O <sub>8</sub> S <sub>2</sub>	40.55	3.68	25.27	8.36	40.62	3.67	25.51	8.34
6	Zn <sup>2+</sup>	200-202	81	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> ZnN <sub>14</sub> O <sub>8</sub> S <sub>2</sub>	39.23	3.54	24.65	8.09	39.32	3.55	24.69	8.07
7	H <sub>3</sub> N <sup>+</sup> CH <sub>3</sub>	129-131	63	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> N <sub>8</sub> O <sub>4</sub> S	42.35	5.10	28.23	8.11	42.42	5.09	28.27	8.09
8	H <sub>3</sub> N <sup>+</sup> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	155-157	70	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> N <sub>8</sub> O <sub>4</sub> S	43.81	5.41	27.26	7.83	43.89	5.40	27.30	7.81
9	H <sub>2</sub> N <sup>+</sup> (C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> OH) <sub>2</sub>	119-121	87	C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> N <sub>8</sub> O <sub>6</sub> S	42.17	5.21	26.24	7.504	42.25	5.20	26.28	7.52
10	HN <sup>+</sup> (C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> OH	146-149	65	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> N <sub>8</sub> O <sub>5</sub> S	44.81	5.78	24.61	7.10	44.92	5.77	24.65	7.05
11	HN <sup>+</sup> (C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ) <sub>3</sub>	119-120	72	C <sub>25</sub> H <sub>42</sub> N <sub>8</sub> O <sub>4</sub> S	54.39	7.70	20.32	5.84	54.52	7.69	20.35	5.82
12	piperidinium	136-138	88	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> N <sub>8</sub> O <sub>4</sub> S	47.83	5.83	24.82	7.13	47.99	5.82	24.87	7.12
13	morpholinium	140-142	76	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> N <sub>8</sub> O <sub>5</sub> S	45.01	5.36	24.72	7.11	45.12	5.35	24.76	7.09
14	piperazinium	155-156	83	C <sub>17</sub> H <sub>25</sub> N <sub>9</sub> O <sub>4</sub> S	45.11	5.59	27.88	7.12	45.22	5.58	27.92	7.10

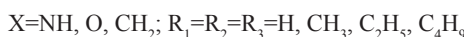
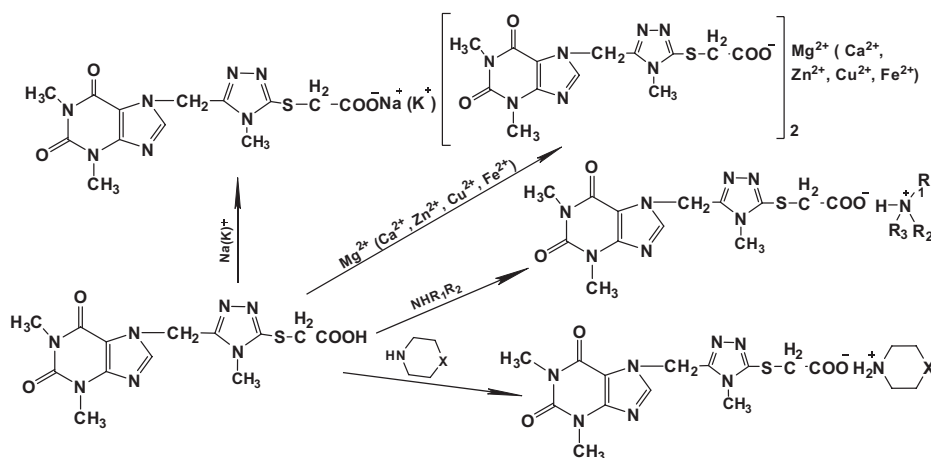


Fig. 1. Synthesis of salts of 2-((5-((theophylline-7'-yl)methyl)-4-methyl-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetic acid.

with centers at 1.35 and 2.95 ppm and singlet at 7.10 ppm, in the spectrum diethylmonoethanolammonium salt – quartets at 3.18 ppm and a triplet at 1.46 ppm and a singlet at 7.05 ppm, and the signal of OH-group in the form of a triplet at 3.48 ppm. <sup>1</sup>H NMR spectrum benzylammonium salt is characterized by a singlet NCH<sub>2</sub> group at 3.82 ppm and multiplet C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-group at 7.15–7.72 ppm.

Morpholinium salt is characterized by a set of signals of the protonated morpholine in the form of two multiplets at 3.25, 3.89 ppm and singlet at 8.95 ppm. Piperazinium cation is described by the presence of singlets of protons at 2.80 ppm and 3.40 ppm. Piperidinium salt is characterized by the signals of the protons of the organic bases in the form of multiplet when of 1.51 ppm and 2.60 ppm and singlet at 7.03 ppm.

In the IR spectra of salts of 2-(5-((theophylline-7'-yl)methyl)-4-methyl-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetic acid the absence of absorption bands of stretching vibrations

of OH-bond and the presence of three bands of stretching vibrations in the region of 1740–1660 cm<sup>-1</sup> is observed. For salts of organic bases broad absorption bands of primary and secondary amines in the region 3050–2900 cm<sup>-1</sup> and 2710–2250 cm<sup>-1</sup> and deformation vibrations in the region of 1610–1565 cm<sup>-1</sup> is observed.

### Conclusions

The optimal conditions of obtaining salts of 2-(5-((theophylline-7'-yl)methyl)-4-methyl-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetic acid with inorganic and organic bases have been determined. It has been confirmed that the greatest outputs of the reaction products were observed while using water as the solvent and its further replacement of propan-1-ol or acetone.

The general physical-chemical properties of the obtained compounds have been studied and a preliminary study of biological activity has been done.

**Conflicts of Interest:** authors have no conflict of interest to declare.

### References

- Gotsulya, A. S., Mikolasyuk, O. O., Panasenko, O. I., et al. (2014). Syntez i doslidzhennia fizyko-khimichnykh vlastyvoitei solei 2-(5-((teofilin-7-il)metyl)-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-ilitio)atsetatnoi kysloty [Synthesis and investigation of the physico-chemical properties of 2-(5-((theophylline-7'-yl)methyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetic acid salts]. *Zaporozhskij medicinskij zhurnal*, 1(82), 91–94. [in Ukrainian].
- Gunawardhana, L., Tsai, M., & Naik, H. (patentee) (2012) Methods for concomitant of theophylline and febuxostat. Patent US, no. 0065236, 2012.
- Eckhardt, M., Himmelsbach, F., Langkopf, E., & Maier, R. (patentee) (2009) Xanthine derivatives, the preparation thereof and their use as pharmaceutical compositions. Patent US, no. 7560450, 2009.
- Hatley, R. J. D., Mason, A. M., & Pinto, I. L. (patentee) (2010) Xanthine derivatives as selective HM74A agonists. Patent US, no. 0168122, 2010.
- Kazunin, M. S., Prijmenko, A. O., Vasil'ev, D. A., & Prijmenko, D. A. (2010). Sintez, fiziko-khimicheskie svojstva 3-(3-metilksantynil-8)-propanovoj kysloty i nekotorykh eyo proizvodnykh [Synthesis, physico-chemical properties 3-(3-methylxanthinyl-8)-propanoic acid and some of its derivatives]. *Zaporozhskij medicinskij zhurnal*, 3(12), 103–107. [in Ukrainian].
- Levich, S. V., Shkoda, O. S., Aleksandrova, K. V. (2013). Syntez ta fizyko-khimichni vlastyvoite S-zamishchenykh pokhidnykh 3-benzyl-8-metyl-7-[(4-fenil-5-tio-4N-1,2,4-triazol-3-il)metyl]-ksantynu [Synthesis and physical-chemical properties of S-substituted derivatives of 3-benzyl-8-methyl-7-[(4-phenyl-5-thio-4H-1,2,4-triazole-3-yl)methyl]-xanthine]. *Aktualni pytannia farmatsevychnoi i medychnoi nauky ta praktyky*, 1(11), 54–58. [in Ukrainian].
- Lupascu, F. G., Dragostin, O. M., Foia, L., Lupascu, D., & Profire, L. (2013). The synthesis and the biological evaluation of new thiazolidine-4-one derivatives containing a xanthine moiety. *Molecules*, 18, 9684–9703. doi:10.3390/molecules18089684.
- Raafat, M. S. (2006). The chemistry of mercapto- and thionesubstituted 1,2,4-triazoles and their utility in heterocyclic synthesis. *ARKIVOC*, IX, 59–112. doi: http://dx.doi.org/10.3998/ark.5550190.0007.904.
- Yurchenko, D. M., Aleksandrova, K. V., Romanenko, M. I., & Makoid, O. B. (2011). Syntez, reaktsii ta fizyko-khimichni vlastyvoite pokhidnykh 8-tioksantynil-7-atsetatnykh kyslot [Synthesis, reaction and physico-chemical properties derivatives of 8-thioxanthinyl-7-acetic acid]. *Aktualni pytannia farmatsevychnoi i medychnoi nauky ta praktyky*, XXIV(3), 104–108. [in Ukrainian].
- Yurchenko, D. M., Aleksandrova, K. V., Romanenko, M. I., Samura, B. A., Taran, A. V. (patentee) (2011). Patent Ukrainy 61715, МПК (2011.01), C07D 473/00. *Amid 4-fenil-5-(3'-metylksantynil-7')metyl-1,2,4-triazolil-3-tioatsetatnoi kysloty, yakyi vyivliaie diuretychnu, protyzapalnu ta analhetychnu dii*. [Amide of 4-phenyl-5-(3'-methylxanthinyl-7')methyl-1,2,4-triazolyl-3-thioacetic acid which exhibits a diuretic, anti-inflammatory and analgesic effect]. [in Ukrainian].

### Information about author:

Gotsulya A. S., Associate Professor, Department of Toxicology and Inorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, E-mail: andrey\_goculya@mail.ru.

### Відомості про автора:

Гоцуля А. С., канд. фарм. наук, старший викладач каф. токсикологічної та неорганічної хімії, Запорізький державний медичний університет, E-mail: andrey\_goculya@mail.ru.

### Сведения об авторе:

Гоцуля А. С., канд. фарм. наук, старший преподаватель каф. токсикологической и неорганической химии, Запорожский государственный медицинский университет, E-mail: andrey\_goculya@mail.ru.

Надійшла в редакцію 14.09.2016 р.